

# Utilidad de la medición de adenosina 5'-trifosfato intracelular en células CD4+ en trasplante renal

Marcos López-Hoyos<sup>1</sup>, Emilio Rodrigo<sup>2</sup>, Manuel Arias<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Sección de Inmunología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander

<sup>2</sup> Servicio de Nefrología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander

Nefrología 2013;33(3):381-8

doi:10.3265/Nefrologia.pre2012.Oct.11540

## RESUMEN

ImmuKnow® es un método diagnóstico *in vitro* que emplea sangre completa del paciente estimulada policlonalmente con fitohemaglutinina y mide la producción de adenosina 5'-trifosfato (ATP) por las células T CD4+. La prueba tiene como objetivo proporcionar una medida objetiva y global de la respuesta inmunitaria celular de cada individuo. El ensayo se diseñó con la idea de monitorizar la inmunosupresión administrada al paciente trasplantado de forma individualizada intentando ayudar a conseguir el equilibrio para evitar un exceso de inmunosupresión con los efectos adversos que conlleva (infecciones, cáncer, etc.) o un defecto de la inmunosupresión con el consiguiente riesgo de rechazo del aloinjerto. La mayoría de los trabajos que han evaluado su utilidad clínica muestra una gran diversidad en cuanto al modo de reclutamiento de los pacientes, el tratamiento inmunosupresor recibido, las variables clínicas analizadas y, sobre todo, el tiempo entre la realización de ImmuKnow® y el evento clínico evaluado. Los datos más consistentes muestran que este ensayo de función de las células T CD4+ resulta útil para predecir el riesgo de infección en trasplantados renales. Sin embargo, no está claro su empleo como marcador de riesgo de rechazo. Por último, dada la enorme variabilidad de la respuesta inmunitaria entre individuos y las publicaciones existentes, se deduce que un valor aislado de ImmuKnow® no tiene capacidad diagnóstica y solo un seguimiento seriado individualizado ayudaría más definitivamente a tomar decisiones clínicas y de cambios en el tratamiento inmunosupresor. Otros aspectos en relación con la aplicación de ImmuKnow® en la rutina clínica, como por ejemplo la periodicidad de la realización de la prueba, precisan estudios prospectivos aleatorizados para una más completa información.

**Palabras clave:** Trasplante renal. Supervivencia del paciente. Inmunosupresión. Comorbilidad. Mortalidad.

**Correspondencia:** Marcos López Hoyos

Sección de Inmunología.

Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Avda. Valdecilla, s/n.

39008 Santander.

mlopezhoyos@humv.es

## *The usefulness of intracellular adenosine-5'-triphosphate measurement in CD4+ cells in renal transplant*

### ABSTRACT

*ImmuKnow® is an in vitro diagnosis method that uses patient samples of whole blood polyclonally stimulated with phytohaemagglutinin. It also measures the adenosine triphosphate (ATP) production by CD4+ T cells. The test aims to offer an objective and overall measurement of each individual's cellular immune response. The trial was designed with the idea of individually monitoring the immunosuppression administered to the transplanted patient. At the same time, it aims to help in achieving balance as a way of avoiding immunosuppression excess and the associated adverse effects (infections, cancer, etc) or an immunosuppression defect and the subsequent risk of allograft rejection. The majority of studies that have evaluated clinical usefulness display great diversity in terms of patient recruitment, the immunosuppressor treatment received, the clinical variables analysed and, above all, the time between performing ImmuKnow® and the evaluated clinical event. The most consistent data show that this trial on T CD4+ cell functioning is useful for predicting the risk of infection in renal transplant patients. However, its use as a rejection risk indicator is unclear. Lastly, given the great variability of immune response amongst individuals and that of existing publications, it can be deduced that the isolated ImmuKnow® value does not have diagnostic capacity and only regular individual monitoring could provide definitive assistance in clinical decision making and immunosuppressor treatment changes. Other aspects of ImmuKnow® application in the clinical routine, such as trial cycles, require randomised prospective studies for more comprehensive information.*

**Keywords:** Renal transplantation. Patient survival. Immunosuppression. Comorbidity. Mortality.

## INTRODUCCIÓN

Esta revisión analiza la información existente sobre un método diagnóstico comercial que determina *in vitro* la producción in-

## revisiones

tracelular de adenosina 5'-trifosfato (ATP) en células T CD4+, denominado ImmuKnow®, que emplea sangre completa del paciente y que tiene como objetivo proporcionar una medida global de la respuesta inmunitaria celular de cada individuo. El método fue diseñado originalmente como biomarcador clínico del grado de inmunosupresión farmacológica en trasplante. En concreto, se han investigado tres usos clínicos: reducción del riesgo de infección causada por una excesiva inmunosupresión, sin aumentar el riesgo de rechazo celular; disminución de toxicidad o efectos adversos indeseados de los fármacos inmunosupresores; e individualización de la inmunosupresión.

El éxito del trasplante renal reside en gran medida en el empleo de inmunosupresores potentes que limitan la capacidad del sistema inmunitario de rechazar el aloinjerto. Durante el periodo postrasplante temprano, los receptores reciben habitualmente los fármacos a dosis basadas en mg/kg de peso hasta que se alcanzan los niveles sanguíneos objetivo, los cuales muestran una gran variabilidad interindividual<sup>1</sup>. En la práctica clínica se debe conseguir el difícil equilibrio entre la sobreinmunosupresión con sus efectos adversos y la infrainmunosupresión y el riesgo de rechazo<sup>2</sup>. La tasa de supervivencia del injerto a largo plazo no ha cambiado de forma significativa en los últimos 20 años, principalmente debido al empleo de por vida de los inmunosupresores<sup>3,4</sup>. La posibilidad de minimizar y monitorizar el tratamiento inmunosupresor de forma individualizada en cada paciente permitiría mejorar el pronóstico a largo plazo del trasplante renal y reducir los costes asociados.

### MONITORIZACIÓN INMUNOLÓGICA

Resulta imposible controlar en la clínica el estado total de inmunosupresión de un paciente mediante la medición de un único parámetro<sup>2</sup>. Hasta la fecha, los biomarcadores más empleados en la clínica han sido los farmacocinéticos. Sin embargo, son los biomarcadores relacionados con los efectos farmacodinámicos de los inmunosupresores los que están adquiriendo mayor importancia<sup>5</sup>. En teoría, el estudio rutinario de un(os) biomarcador(es) ideal(es) identificaría aquellos pacientes con riesgo de sufrir un rechazo agudo, infección o cáncer, y aquellos pacientes susceptibles de minimizar la inmunosupresión. Además, serviría de herramienta fundamental en la monitorización individual de los pacientes con infra o sobreinmunización y podría llegar a complementar y/o sustituir a la monitorización farmacocinética. Dado que el sistema inmunitario responde rápidamente y cambia continuamente, la monitorización de forma regular y repetida al paciente parece fundamental para entender cualquier respuesta inmunitaria.

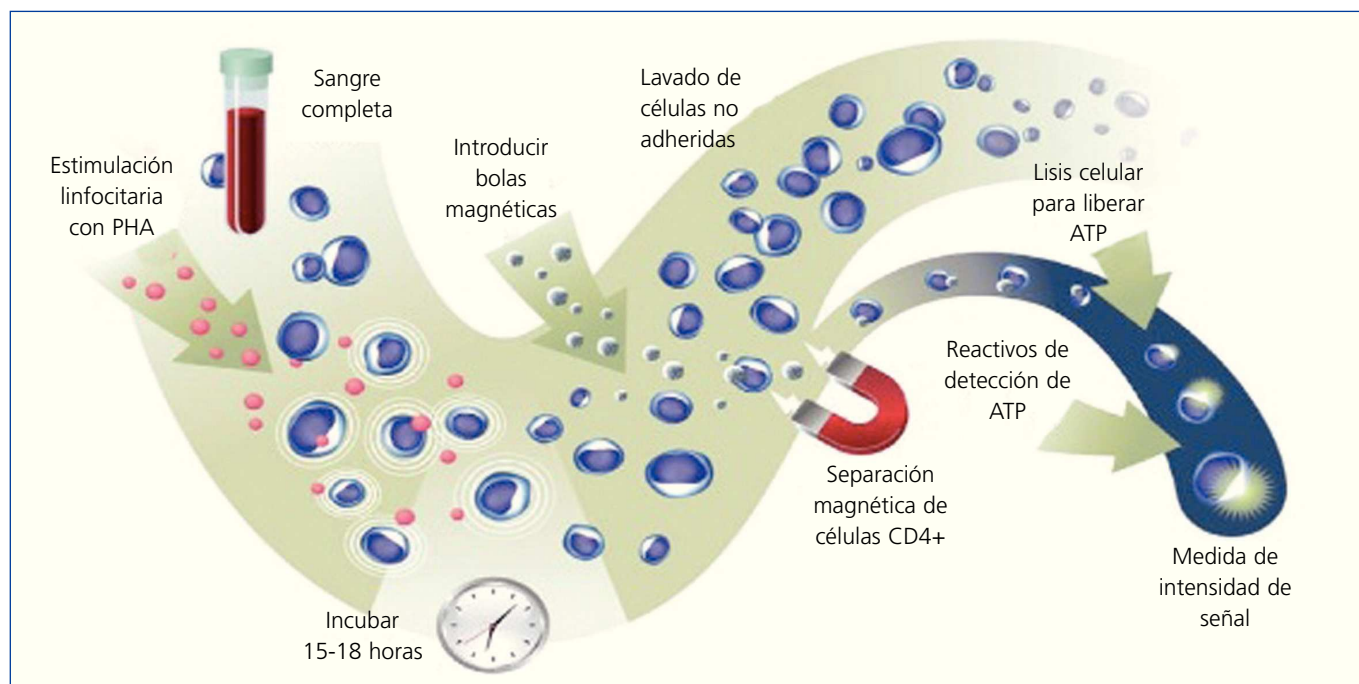
### FUNDAMENTO DE IMMUKNOW®

El uso del ensayo fue aprobado en 2010 por la Food and Drug Administration (FDA) para la detección de la respuesta inmunitaria celular en pacientes sometidos a trasplante de ór-

ganos que recibían tratamiento inmunosupresor<sup>6,7</sup>. Recientemente, el ensayo también ha superado los requerimientos de la directiva europea para diagnóstico *in vitro*. De forma específica, mide la capacidad de las células T CD4+ de una muestra de sangre completa de reaccionar frente al estímulo policlonal con el mitógeno fitohemaglutinina (PHA) (figura 1). Al igual que los inmunosupresores que se emplean en clínica, la PHA no es específica de ninguna célula T, por lo que refleja la capacidad de cualquiera de sus subtipos para responder. El método cuantifica la cantidad de ATP producido por las células T CD4+ después de toda una noche de incubación con PHA<sup>8</sup>. La producción de ATP es un fenómeno temprano en el proceso de activación celular y es reflejo de la respuesta al estímulo mitogénico<sup>9</sup>.

En el caso del trasplante de órganos sólidos, el rechazo agudo cursa fundamentalmente con una activación celular, aunque hay cada día más evidencias acerca de la importancia del rechazo mediado por anticuerpos<sup>10</sup>. Las células T helper (Th) CD4+ dirigen la respuesta inmunitaria hacia un tipo de respuesta celular (Th1, Th2, Th17, Tregs, etc.) mediante la síntesis y secreción de diversas combinaciones de citocinas según el tipo de antígeno que encuentra. Aunque no es objetivo de la presente revisión tratar los múltiples mecanismos inmunológicos implicados en el rechazo agudo, no se debe olvidar que en todos ellos participan las células T CD4+. La importancia del ensayo es que proporciona una medida funcional global de las células Th y no solo la medida de un metabolito, una célula o el nivel de un fármaco.

Por otro lado, es un método reproducible que minimiza la variabilidad que existe con otros ensayos celulares, la detección mediante citometría de flujo de la producción intracelular de citocinas o la proliferación celular medida por la incorporación de timidina tritiada<sup>11,12</sup>. Esto lo consigue porque ajusta los controles al volumen de sangre y no al número de células en el ensayo. Se considera que esto reproduce más fehacientemente la situación en el torrente circulatorio que el empleo de un número fijo y artificial de células. La variabilidad esperada de los valores de ATP intracelular producido entre receptores de trasplante es 11,7 %<sup>8</sup>. La figura 2 A muestra las diferencias en la concentración de ATP producida basada en un volumen de sangre según el número de células CD4+/ul de sangre en un grupo de receptores de trasplante renal sometidos a tratamiento de inducción con timoglobulina seguido de triple inmunosupresión de mantenimiento estándar<sup>13</sup>. La figura 2 B muestra, además, la falta de correlación entre los valores de ATP del ensayo y los niveles valle de tacrolimus<sup>13</sup>. Es decir, los resultados de ImmuKnow® no guardan relación ni con el número de células T CD4+ ni con los niveles sanguíneos de los inmunosupresores. Además, la inmunidad celular es específica de cada paciente y, por lo tanto, los cambios que se producen en el tiempo proporcionan un perfil inmunitario individualizado que puede ser pronóstico de fenómenos mediados por la inmunidad celular con relación a una inmunosupresión excesiva o deficiente<sup>2,5,14</sup>.

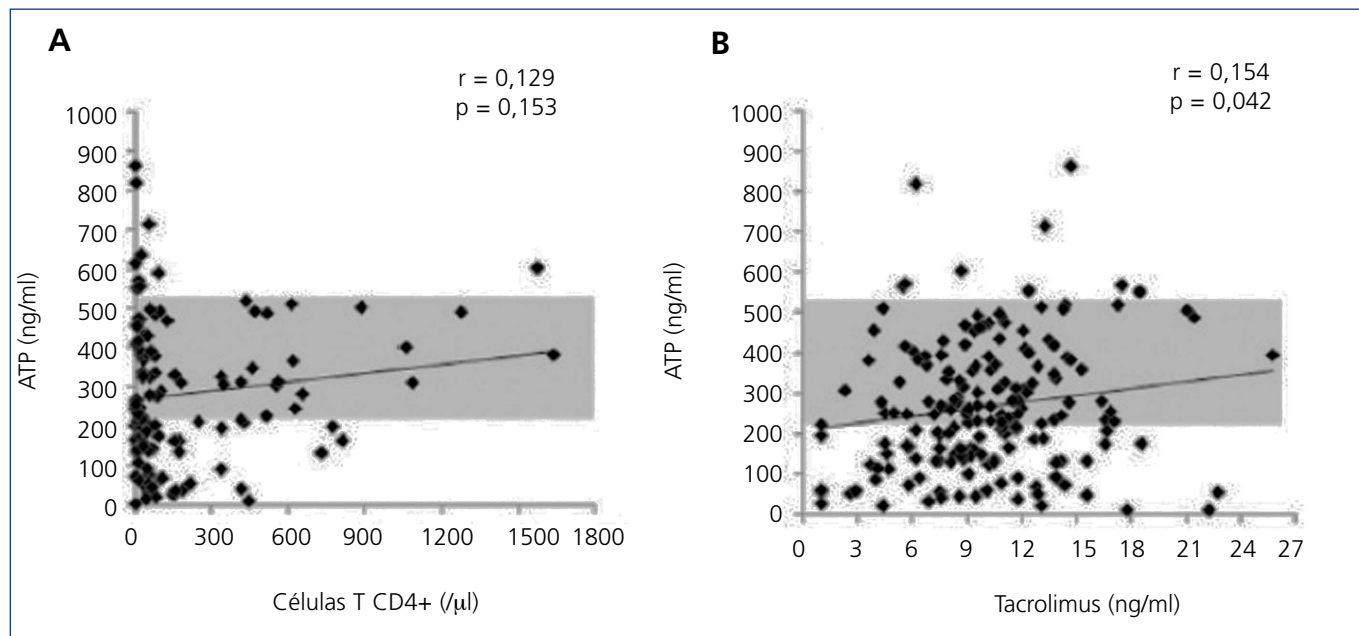


**Figura 1.** Esquema explicativo del ensayo para medir *in vitro* la función global de las células T CD4+ sanguíneas. ATP: adenosina 5'-trifosfato; PHA: mitógeno fitohemaglutinina.

### IMMUKNOW® Y ASOCIACIÓN CON EVENTOS CLÍNICOS

Un estudio retrospectivo multicéntrico que englobaba a 10 hospitales americanos comparó los valores de ImmuKnow® con la

situación clínica de más de 500 receptores de trasplantes de órganos sólidos (riñón, hígado, intestino y corazón). En la tabla 1 se comprueba como los receptores con valores de ImmuKnow® entre 130 y 450 ng/ml de ATP tenían un menor riesgo de sufrir infección o rechazo que los receptores con valores por debajo



**Figura 2.** Efecto del número de células T CD4+ en sangre y de los niveles sanguíneos de tacrolimus en la producción de ATP intracelular. A) Diferencias en la producción de ATP según el volumen de sangre y las cifras de células T CD4+ en sangre que muestran como el ensayo está ajustado al volumen de sangre, pero no al número total de células T CD4+. B) Correlación muy débil entre la producción de ATP y los niveles sanguíneos de tacrolimus. ATP: adenosina 5'-trifosfato.

**Tabla 1.** Resumen del número de rechazos e infecciones por órgano trasplantado y su relación con los niveles de ATP detectados

Tipo de injerto	Número de pacientes en rechazo	Número de rechazos	Mediana de ATP (ng/ml ATP)	Número de infecciones	Mediana de ATP en infección (ng/ml ATP)
Riñón	243	22	462	31	164
Hígado	150	7	471	27	60
Corazón	86	3	620	2	160
Intestino	25	7	769	6	127
Total	504	39	488	66	111

ATP: adenosina 5'-trifosfato. Modificado con permiso (Kowalski et al., 2006)

o encima, respectivamente, de ese rango<sup>15</sup>. Los receptores con una producción de 280 ng/ml de ATP tenían un valor predictivo negativo del 96 % tanto para infección como para rechazo.

Estos datos se han replicado en otros estudios unicéntricos en trasplantados renales<sup>13,16,22</sup>. Las áreas bajo la curva ROC oscilaban entre 0,671 y 0,845 para valores de ATP de 180 ng/ml. El estudio realizado por Berglund et al.<sup>22</sup> en trasplantados renales, renopancreáticos o hepáticos mostró que las infecciones graves y la mortalidad aumentaba con valores de ATP inferiores a 175 ng/ml. Los valores absolutos del ensayo son específicos de cada centro y dependen de las características específicas de los pacientes y de la carga de tratamiento inmunosupresor suministrado por cada centro. La correlación entre la producción intracelular de ATP y los episodios clínicos que demuestran la mayoría de los estudios reside en que estos se realizaban al diagnóstico o alrededor de unos 30 días tras el episodio. La significación estadística de las correlaciones se pierde cuando el ensayo se realiza 90 días antes del episodio<sup>23</sup>.

Cada tipo de aloinjerto tiene sus propias características en cuanto a la respuesta inmunitaria que induce. El trasplante renal en particular tiene el riesgo principal de infección por el virus BK<sup>23,24</sup>. Este virus infecta de forma latente al 95 % de los riñones adultos, pero puede conducir al desarrollo de la nefropatía BK en pacientes inmunocomprometidos. Se ha estimado que el 20-40 % de los trasplantados desarrollan viruria con solo el 12 % de viremia<sup>23</sup>. Muchos centros monitorizan periódicamente la presencia de viruria y viremia BK mediante proteína C reactiva (PCR)<sup>25,26</sup>. Una vez que se detecta el virus BK en la sangre, la inmunosupresión se reduce de forma empírica o se eliminan uno o más inmunosupresores. El riesgo de rechazo aumenta si la inmunosupresión se reduce bruscamente o no se restaura a tiempo<sup>27</sup>.

El estudio de Batal et al.<sup>20</sup> mostró como la medición con ImmuKnow<sup>®</sup> en trasplantados renales identificaba aquellos pacientes con mayor riesgo de nefropatía por BK. Los pacientes con viremia BK mostraron niveles de ATP medios de 103 ng/ml, mientras que aquellos con viruria o negativos tenían cifras de ATP más elevadas. Dentro del grupo con viru-

ria, aquellos pacientes con niveles de ImmuKnow<sup>®</sup> más bajos se asociaban con una mayor carga viral en orina y, además, estos niveles bajos se correlacionaban con replicación viral que desembocaba finalmente en el desarrollo de viremia. En el estudio mencionado, de los tres pacientes que desarrollaron nefropatía BK, dos tenían niveles de ATP bajos (50 y 178 ng/ml) 3 y 5 semanas antes del desarrollo de la nefropatía, respectivamente. El tercer paciente fue en principio negativo para BK con cifras de 206 ng/ml de ATP. Diez semanas después, los valores cayeron a 106 ng/ml y el paciente desarrolló viremia BK.

La utilidad de reducir el riesgo de infección monitorizando la inmunosupresión con ImmuKnow<sup>®</sup> se ha descrito también en la enfermedad linfoproliferativa postrasplante causada por el virus de Epstein Barr y la infección por citomegalovirus (CMV)<sup>19,28-30</sup>. Una serie de 12 receptores de trasplante renal ingresados por infecciones tenían niveles muy bajos de ATP (rango: 3-178 ng/ml)<sup>29</sup>. Los pacientes estaban tratados con distintas pautas de inmunosupresión de mantenimiento en el momento de la infección. El tratamiento consistió en reducir o eliminar uno o más de los inmunosupresores que recibían, junto con el empleo de antivirales en algunos casos. Los valores de ATP en las semanas posteriores a ese tratamiento aumentaron al tiempo que las cargas virales desaparecieron o se redujeron a niveles aceptables. No hubo ningún episodio de rechazo. Estos resultados sugieren que la titulación con ImmuKnow<sup>®</sup> podría servir para monitorizar un aumento de la inmunosupresión con objeto de prevenir el rechazo, una vez que la infección se resuelve.

Un estudio prospectivo observacional con 49 trasplantados renales, que recibieron terapia de inducción con basiliximab y de mantenimiento con tacrolimus, micofenolato mofetilo (MMF) y esteroides, sin criterios de selección, determinó la producción de ATP mediante ImmuKnow<sup>®</sup> a los 7, 14, 21 y 42 días, y a los 3, 6 y 12 meses postrasplante<sup>19</sup>. Diecisiete (34,6 %) receptores tuvieron infecciones que incluyeron: 11 con infección por CMV, 2 con enfermedad invasiva del estómago y colitis, 2 con viruria y viremia por BK y dos con infección bacteriana. Todos los episodios infecciosos se acompañaron de cifras bajas de ATP. La replicación del CMV se

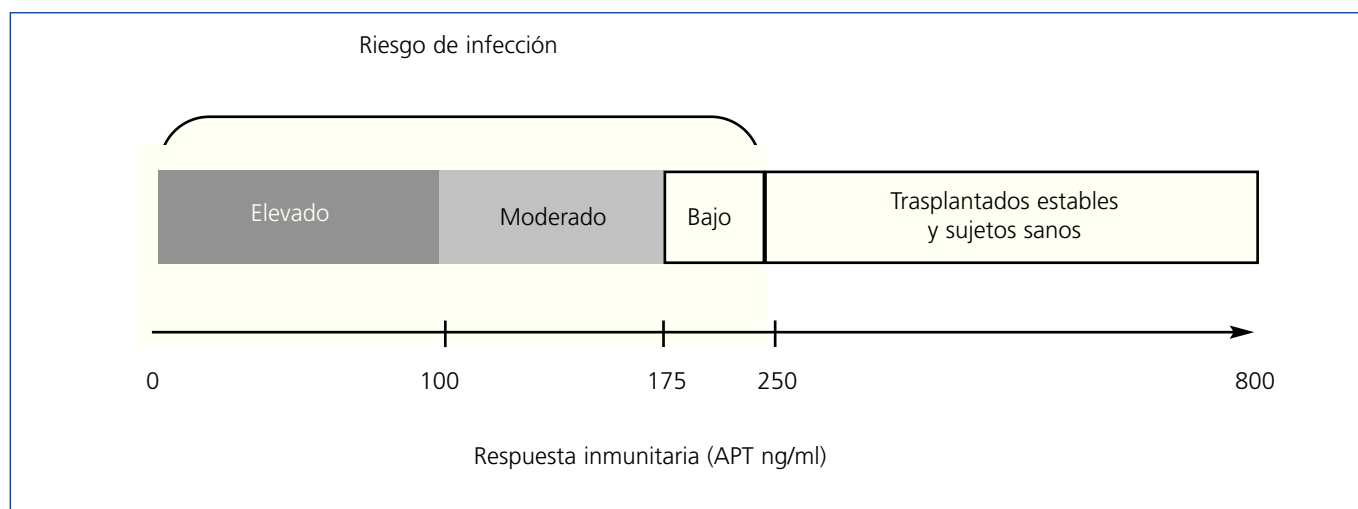
predijo a partir de los valores bajos de ATP en el 57,1 % antes de la aparición de manifestaciones clínicas. La reducción de la inmunosupresión redujo significativamente la replicación del BK. Tres trasplantados mostraron signos clínicos y de laboratorio característicos de rechazo que se confirmaron mediante biopsia, pero solo uno mostró cifras elevadas de ATP. Por lo tanto, el estudio demostró la utilidad de ImmuKnow® para detectar infecciones y modificar la inmunosupresión, sin suponer un riesgo de rechazo celular. La utilidad de ImmuKnow® para predecir el riesgo de infección se ha demostrado recientemente en dos metanálisis en trasplante renal<sup>31</sup> y hepático<sup>32</sup>, y se esquematiza en la figura 3.

Al igual que ayuda a predecir el riesgo de infección asociado a un exceso de inmunosupresión, ImmuKnow® también se ha evaluado como método de intervención para evitar toxicidades asociadas a la inmunosupresión en el paciente trasplantado, como ocurre con los corticosteroides, que pueden ocasionar una elevada morbilidad<sup>33-37</sup>. Los protocolos experimentales diseñados para reducir, evitar o eliminar el uso de esteroides en trasplante han incorporado como herramienta de monitorización el ensayo ImmuKnow®. Así, un ensayo clínico que incluyó 57 trasplantados renales, de los que 27 fueron aleatorizados para reducir de forma rápida la dosis de corticosteroides, evaluó la utilidad de ImmuKnow®<sup>38</sup>. Durante el ensayo, 53 % de los pacientes controles fueron diagnosticados de infección y 56 % de estos, además, tuvieron varias infecciones. En cambio, solo el 22 % de los pacientes aleatorizados desarrollaron infecciones y ninguno tuvo infecciones repetidas ( $p < 0,05$ ). No hubo diferencias en la tasa de rechazo entre ambos grupos. En este ensayo, el empleo de ImmuKnow® para monitorizar la respuesta inmunitaria facilitó la reducción de los episodios de infección, su duración y la eliminación de los esteroides.

En trasplante renal, pero también en otros trasplantes de órganos sólidos, puede ser útil reducir, limitar o eliminar la

inmunosupresión con fármacos anticalcineurínicos (ACN)<sup>36,39-42</sup>. Dos macrólidos, sirolimus y everolimus, inhibidores del *mammalian target of rapamycin* (mTOR) se emplean como alternativa a los ACN en el tratamiento inmunosupresor de mantenimiento. Un estudio comparó los niveles de ATP en trasplantados renales estables mantenidos con monoterapia de sirolimus con sujetos controles sanos y mostró como el tratamiento con sirolimus indujo unas cifras significativamente más bajas de ATP, junto con un mayor grado de inhibición de la proliferación en cultivo mixto linfocitario y menor producción de interleucina 10 (IL-10)<sup>43</sup>. Otros trabajos también han demostrado que unos valores muy bajos de ATP se acompañaban de menor producción de IL-10 y un mayor riesgo de infección bacteriana<sup>44</sup>. Estos resultados son similares a los de otro estudio en 18 trasplantados renales que analizó las cifras de células T reguladoras y la producción de ATP tras la conversión a inhibidores de mTOR desde ACN<sup>41</sup>. El número de células T reguladoras aumentó en más del 80 % de los pacientes convertidos y se correlacionó directamente con un descenso de producción de ATP desde 328 a 248 ng/ml de media.

Un ensayo de dos ramas con 25 trasplantados renopancreáticos convertidos desde un tratamiento de mantenimiento con sirolimus, ciclosporina y corticosteroides a otro con sirolimus y ácido micofenólico (MPA) empleó ImmuKnow® para monitorizar prospectivamente la respuesta inmunitaria<sup>37,40</sup>. Las cifras de ATP caían ligeramente y de forma progresiva en los 6 meses de la conversión. Posteriormente, las cifras se estabilizaban de forma gradual durante el resto del año de seguimiento posconversión. En este ensayo, dos pacientes mostraron valores de ATP permanentes por debajo de 100 ng/ml y uno de ellos desarrolló enfermedad por CMV. En estos pacientes, se redujo la dosis de MPA a la mitad aproximadamente y los valores de ATP aumentaron.



**Figura 3.** Propuesta de los rangos de niveles de producción de ATP intracelular asociados con riesgo de infección en trasplante renal de acuerdo con la bibliografía publicada hasta el momento. ATP: adenosina 5'-trifosfato.



## revisiones

Un ensayo multicéntrico de eliminación de esteroides, aleatorizado en 3 ramas con 126 trasplantados renales, evaluó InmuKnow® como biomarcador de la inmunidad celular junto con otros métodos, como EliSpot, citometría de flujo, anticuerpos específicos de donante y compatibilidad HLA<sup>38</sup>. Las tres ramas recibieron timoglobulina y prednisona como tratamiento de inducción hasta el día 5 postrasplante. Los niveles de ATP se cuantificaron antes y después de este tratamiento de inducción. De media, los valores de ATP disminuyeron de 322 a 172 ng/ml de ATP antes de la aleatorización. El análisis multivariante de los datos mostró que una cifra de ATP > 375 ng/ml fue la única variable que se correlacionó ( $p = 0,04$ ) con rechazo agudo celular y con cifras de creatinina inestables postrasplante.

Nuestro grupo<sup>21</sup> ha analizado prospectivamente InmuKnow® en trasplantados renales en distintas situaciones clínicas. El ensayo se empleó para identificar pacientes con riesgo de rechazo o infección y la información obtenida se mostró útil para monitorizar la inmunosupresión. El trabajo concluyó que, en trasplantados renales estables o infectados con valores bajos de ATP, la dosis de inmunosupresión puede reducirse de forma segura sin incrementar el riesgo de rechazo. En pacientes estables o con rechazo y cifras de ATP elevadas, la dosis de inmunosupresión puede incrementarse o añadirse otros inmunosupresores para evitar el daño inmunológico al injerto, aunque parece aportar más información útil en casos de niveles bajos de ATP, sobreinmunosupresión, que en el caso contrario.

Otro estudio retrospectivo monitorizó la producción de ATP antes y después del trasplante renal en 64 receptores<sup>16</sup> y lo comparó con el tipo de inmunosupresión, dosis y niveles sanguíneos, concentración sérica de creatinina, cifras de leucocitos, tipaje HLA, anticuerpos preformados, efectos adversos, infecciones y rechazos. No hubo asociación del ensayo con ningún tipo de test clínico, pero sí se observaron cifras elevadas de ATP pretrasplante en aquellos con más episodios de rechazo (8/10), mientras que los pacientes con bajas cifras de ATP tenían más infecciones (6/10;  $p < 0,001$ ). Los pacientes

que recibieron tratamiento para el rechazo mostraron un descenso de las cifras de ATP medidas a los 5 días de inicio del tratamiento ( $p = 0,002$ ).

El manejo de la inmunosupresión ha adquirido un factor más de complejidad con la aparición de los preparados genéricos de ACN y MMF. La estrecha ventana terapéutica de estos fármacos y el elevado grado de variabilidad entre pacientes aumenta la dificultad, puesto que no se trata solo de cambiar de un fármaco comercial innovador a la fórmula genérica. Es probable que el empleo del ensayo revisado aquí antes y durante el cambio al preparado genérico (de forma similar a los estudios desde ACN a imTOR) pueda servir como herramienta de seguridad para el clínico y tener resultados en términos de acción global sobre la inmunidad celular en relación con los cambios en los inmunosupresores.

En la tabla 2 se resumen las situaciones clínicas en trasplante renal donde la medición de la producción intracelular de ATP podría resultar de interés. Debe considerarse que InmuKnow® es un método de laboratorio caro, en gran medida por ser novedoso y no estar implantado aún en el mercado. No obstante, el precio del método es equiparable a muchas de las pruebas genéticas disponibles en la clínica e inferior a muchas de las pruebas de imagen (tomografía axial computarizada, resonancia magnética nuclear, etc.) que se solicitan diariamente.

**Tabla 2.** Posibles indicaciones de la medición de ATP intracelular en trasplantados renales

### Situación clínica sospechada o evento clínico

Infección

Rechazo

Toxicidad por inmunosupresión excesiva

Conversión de fármaco inmunosupresor

Retirada de esteroides

ATP: adenosina 5'-trifosfato.

## CONCEPTOS CLAVE

1. El descenso de los niveles de ATP intracelular en un paciente tiene un claro valor predictivo de riesgo de infección en trasplante renal y hepático, especialmente con valores < 100 ng/ml.
2. Una única determinación de ATP en un paciente no tiene utilidad predictiva ni diagnóstica.
3. El valor de la medición de ATP intracelular producida por las células T CD4+ en sangre como biomarcador del efecto de los fármacos inmunosupresores en el sistema inmunitario se comprueba cuando se emplea de forma seriada para una monitorización individual.
4. La periodicidad de la determinación en la monitorización postrasplante renal está aún por definir, aunque dicha periodicidad deberá ser más frecuente en los primeros 6 meses del trasplante, para realizarse después anualmente.
5. El ensayo se debería solicitar antes de cualquier cambio en el tratamiento inmunosupresor y tras dicho cambio, de forma periódica.

te en un hospital. En todo caso, no debe considerarse una prueba abierta del catálogo, sino que su petición deberá estar bien demostrada y tener una clara implicación en el manejo del trasplantado renal, lo cual mejorará la eficiencia de la prueba.

## Agradecimientos

Queremos agradecer las sugerencias y comentarios aportados por el Dr. Kowalski en la redacción del manuscrito.

## Conflictos de interés

Los autores declaran que no tienen conflictos de interés potenciales relacionados con los contenidos de este artículo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Rovira P, Mascarell L, Truffa-Bach P. The impact of immune suppressive drugs on the analysis of T cell activation. *Curr Med Chem* 2000;7:673-92.
- Fishman JA. Infection in solid-organ transplant recipients. *N Engl J Med* 2007;357:2601-14.
- Lodhi S, Lamb K, Meier-Kriesche H. Solid organ allograft survival improvement in the United States: the long-term does not mirror the dramatic short-term success. *Am J Transplant* 2011;11:1226-35.
- Lamb K, Lodhi S, Meier-Kriesche H. Long-term renal allograft survival in the United States: a critical reappraisal. *Am J Transplant* 2011;11:450-62.
- Wieland E, Olbricht CJ, Susal C, Gurragecha P, Böhler T, Israeli M, et al. Biomarkers as a tool for management of immunosuppression in transplant patients. *Ther Drug Monit* 2010;32:560-72.
- United States Department of Health and Human Services. K013196; Cylex Immune Cell Function Assay, April 02, 2002.
- United States Department of Health and Human Services. K013196; Immuknow® Immune Cell Function Assay, October 18, 2010.
- Kowalski R, Post D, Schneider M, Britz J, Thomas J, Deierhoi M, et al. Immune cell function testing: an adjunct to therapeutic drug monitoring in transplant patient management. *Clin Transplant* 2003;17:77-88.
- Buttgereit F, Burmester G-R, Brand MD. Bioenergetics of immune functions: fundamental and therapeutic aspects. *Immunol Today* 2000;21:192-9.
- Nankivell BJ, Alexander SI. Rejection of the Kidney Allograft. *N Engl J Med* 2010;363:1451-62.
- Kowalski RJ, Zeevi A, Mannon RB, Britz JA, Carruth LM. Immunodiagnosics: Evaluation of functional T-cell immunocompetence in whole blood independent of circulating cell numbers. *J Immunotoxicol* 2007;4:225-32.
- Augustine N, Pasi B, Hill H. Comparison of ATP production in whole blood and lymphocyte proliferation in response to phytohemagglutinin. *J Clin Lab Anal* 2007;21:265-70.
- Serban G, Whittaker V, Fan J, Liu Z, Manga K, Khan M, et al. Significance of immune cell monitoring in renal transplantation after thymoglobulin induction therapy. *Hum Immunol* 2009;70:882-90.
- Roedder S, Vitalone M, Khatri P, Sarwal M. Biomarkers in solid organ transplantation: establishing personalized transplantation medicine. *Genome Medicine* 2011;3:37-49.
- Kowalski R, Post D, Mannon RB, Sebastian A, Wright HI, Sigle G, et al. Assessing relative risks of infection and rejection: a meta-analysis using immune function assay. *Transplantation* 2006;82(5):663-8.
- Cadillo-Chávez R, de Echegaray S, Santiago-Delpín EA, Rodríguez-Trinidad AT, Camacho-Carrazo B, Alfaro T, et al. Assessing the risk of infection and rejection in Hispanic renal transplant recipients by means of an adenosine triphosphate release assay. *Transplant Proc* 2006;38:918-20.
- Pérez-Flores I, Sánchez-Fructuoso A, Santiago JL, Fernández-Arquero M, Calvo N, de la Concha EG, et al. Intracellular ATP levels in CD4 lymphocytes are a risk marker of rejection and infection in renal graft recipients. *Transplant Proc* 2009;41:2106-8.
- Torío A, Fernández EJ, Montes-Ares O, Guerra RM, Pérez MA, Checa MD. Lack of association of immune cell function test with rejection in kidney transplantation. *Transplant Proc* 2011;43:2168-70.
- De Paolis P, Favaro A, Piola A, Martini F, Cristiana G, Agrati C, et al. "ImmuKnow" to measurement of cell-mediated immunity in renal transplant recipients undergoing short-term evaluation. *Transplant Proc* 2011;43(4):1013-6.
- Batal I, Zeevi A, Heider A, Girnita A, Basu A, Tan H, et al. Measurements of global cell-mediated immunity in renal transplant recipients with BK reactivation. *Am J Clin Pathol* 2008;129:587-91.
- Sánchez-Velasco P, Rodrigo E, Valero R, Ruiz JC, Fernández-Fresnedo G, López-Hoyos M, et al. Intracellular ATP concentrations of CD cells in kidney transplant patients with and without infection. *Clin Transplant* 2008;22:55-60.
- Israeli M, Yussim A, Mor E, Sredni B, Klein T. Preceding the rejection: in search for a comprehensive posttransplant immune monitoring platform. *Transplant Immunol* 2007;18(1):7-12.
- Vats A, Randhawa PS, Shapiro R. Diagnosis and treatment of BK virus-associated transplant nephropathy. *Adv Exp Med Biol* 2006;577:213-27.
- Randhawa P, Vats A, Shapiro R. The pathobiology of polyomavirus infection in man. *Adv Exp Med Biol* 2006;577:148-59.
- Huskey J, Gralla J, Wiseman A. Single time point immune function assay (ImmuKnow) testing does not aid in the prediction of future opportunistic infections or acute rejection. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011;6:423-9.
- Brennan DC, Agha I, Bohl DL, Schnitzler MA, Hardinger KL, Lockwood M, et al. Incidence of BK with tacrolimus versus cyclosporine and impact of preemptive immunosuppression reduction. *Am J Transplant* 2005;5:582-94.
- Schaub S, Hirsch HH, Dickenmann M, Steiger J, Mihatsch MJ, Hopfer H, et al. Reducing immunosuppression preserves allograft function in presumptive and definitive polyomavirus-associated nephropathy. *Am J Transplant* 2010;10:2615-23.

28. Cannon RM, Ouseph R, Jones CM, Hughes MG, Eng M, Marvin MR. BK viral disease in renal transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2011;16:576-9.
29. Gautam A, Morrissey PE, Brem AS, Fischer SA, Gohh RY, Yango AF, et al. Use of an immune function assay to monitor immunosuppression for treatment of posttransplant lymphoproliferative disorder. *Pediatr Transplant* 2006;10:613-6.
30. Gautam A, Fischer SA, Yango AF, Gohh RY, Morrissey PE, Monaco AP. Cell-mediated immunity (CMI) and posttransplant viral infections. Role of a functional immune assay to titrate immunosuppression. *Int Immunopharmacol* 2006;6(13-14):2023-6.
31. Ling X, Xiong J, Liang W, Schroder PM, Wu L, Ju W, et al. Can immune cell function assay identify patients at risk of infection or rejection? A meta-analysis. *Transplantation* 2012;93:737-43.
32. Rodrigo E, López-Hoyos M, Corral M, Fábrega E, Fernández-Fresnedo G, San Segundo D, et al. ImmuKnow(®) as a diagnostic tool for predicting infection and acute rejection in adult liver transplant recipients: Systematic review and meta-analysis. *Liver Transpl.* 2012;18:1245-53.
33. Helanterä I, Koskinen P. Association of immune cell function assay with protocol biopsy findings and viral infections in well matched kidney transplant recipients. *Clin Nephrol* 2010;74:123-31.
34. Vincenti F, Schena FP, Paraskevas S, Hauser IA, Walker RG, Grinyo J; FREEDOM Study Group. A randomized, multicenter study of steroid avoidance, early steroid withdrawal or standard steroid therapy in kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2008;8:307-16.
35. Matas AJ. Resolved: In minimizing kidney transplant immunosuppression, steroids should go before calcineurin inhibitors. *J Am Soc Nephrol* 2007;18:3026-30.
36. Zeng X, El-Amm JM, Doshi MD, Singh A, Morawski K, Cincotta E, et al. Intermediate-term outcomes with early steroid withdrawal in African-American renal transplant recipients undergoing surveillance biopsy. *Surgery* 2007;142:538-45.
37. Knight RJ, Kerman RH, McKissick E, Lawless A, Podder H, Katz S, et al. Selective corticosteroid and calcineurin-inhibitor withdrawal after pancreas-kidney transplantation utilizing thymoglobulin induction and sirolimus maintenance therapy. *Clin Transplant* 2008;22:645-50.
38. Woodle ES, Peddi VR, Tomlanovich S, Mulgaonkar S, Kuo PC, for the TRMIS Study Investigators. A prospective, randomized, multicenter study evaluating early corticosteroid withdrawal with Thymoglobulin® in living-donor kidney transplantation. *Clin Transplant* 2010;24:73-83.
39. Li S, Wang W, Hu Z, Ren L, Yin H, Yang X, et al. The effects of early rapid corticosteroid reduction on cell-mediated immunity in kidney transplant recipients. *Transpl Immunol* 2011;24:127-30.
40. Knight RJ, Kerman RH, McKissick E, Lawless A, Podder H, Katz S, et al. A pilot study of immunosuppression minimization after pancreas-kidney transplantation utilizing thymoglobulin induction and sirolimus maintenance therapy. *Transplant Proc* 2005;37:3538-41.
41. San Segundo D, Fernández-Fresnedo G, Gago M, Beares I, Ruiz-Criado J, González M, et al. Number of peripheral blood regulatory T-cells and lymphocyte activation at 3 months after conversion to mTOR inhibitor therapy. *Transplant Proc* 2010;42:2871-3.
42. Rajab A, Pelletier RP, Henry ML, Ferguson RM. Excellent clinical outcomes in primary kidney transplant recipients treated with steroid-free maintenance immunosuppression. *Clin Transplant* 2006;20:537-46.
43. Brunet M, Campistol JM, Diekmann F, Guillen D, Millan O. T-cell function monitoring in stable renal transplant patients treated with sirolimus monotherapy. *Mol Diagn Ther* 2007;11(4):247-56.
44. Jørgensen PF, Wang JE, Almlöf M, Solberg R, Okkenhaug C, Scholz T, et al. Sirolimus interferes with the innate response to bacterial products in human whole blood by attenuation of IL-10 production. *Scand J Immunol* 2001;53:184-91.